

## 음식물 찌꺼기의 고온·호기적 속성 발효를 위한

### 토양 균주 분리

류승용, 김소영, 이기영  
호서대학교 자연과학부 식품가공학전공

#### 요약문

본 연구에서는 음식물 찌꺼기를 원료로 생균 발효사료를 생산하기 위해 단시간 호기적 발효에 필요한 고온성 균주를 개발하고자 하였다. 폐기물 처리장이나 경작연수가 10년 이상 경과된 농경지 야산의 토양 등 유기물질이 많은 장소에서 채취한 토양은 종균원으로 이용하였다. 1차 Screening을 통해 재배지(B group), 폐기물 처리장(F group), 야산(W group)에서 채취한 토양과 시판 발효용 종균제로부터 고온성 세균들을 분리한 뒤 고온·호기적 속성 발효에 적합한 균주를 가려내기 위해 발효실험을 통한 2차 screening을 실시하였다. 그 결과, 재배지 토양으로부터 B1, B2, B3, B4, B6, 폐기물 처리장으로부터 F1, F2, 야산으로부터 W1, W3, W4 등의 세균이 선발되었다. 이들 중 특히 B6는 발효개시 4시간만에 생균수가  $1.3 \times 10^9/\text{ml}$ 에 이르러 높은 증식속도를 나타냈고, 8시간만에 최고치인  $7.5 \times 10^9/\text{ml}$ 까지 증가하여 호기적 고온성 속성 발효에 적합한 균주로 사료되었다.

주제어 - 음식물 찌꺼기, 생균사료생산, 고온호기성발효, 토양균

#### 1. 서론

생활쓰레기 발생량의 31.5%를 차지하는 음식물 쓰레기는 높은 수분함량으로 인하여 매립할 경우 침출수를, 소각시 인체에 치명적인 다이옥신을 비롯한 대기오염물질의 간접 발생원으로 지목되어왔다. 2002년부터는 수도권 매립지의 반입이 전면 금지되고, 2005년부터 폐기물 관리법에 의해서 음식물쓰레기의 직매립이 전면 금지될 예정이다. 따라서 음식물쓰레기 재활용 확대가 요구되고 있으며, 다각적인 자원화 방안의 개발 및 도입의 필요성이 제기되어 왔다. 특히 사료원료의 대부분을 수입하는 우리나라에서는 가장 부가가치가 높은 방법으로 음식물 찌꺼기를 이용한 사료생산이 주목을 받아왔다. 이에 따라 음식물 찌꺼기 사료화 시설들이 많이 건립되었지만, 수분함량이 높아 쉽게 부패되는 특성 때문에 공정에 많은 어려움을 겪고 있다. 또한 가축농가에서도 발효에 대한 충분한 지식 없이 소규모 시설로 분쇄하여 액화시킨 것을 가축에게 급여하다가 병원성 균에 오염되어 가축의 대량 폐사를 초래한 사건들이 보고되고 있다. 따라서 본 연구에서는 음식물 찌꺼기를 이용한 안전하고도, 경제적인 발효사료를 제조하기 위해 단시간 고온·호기적 발효를 연구하였고, 이를 위하여 필요한 발효용 종균을 토양으로부터 분리하였다.

## 2. 실험재료 및 방법

### 2-1. 토양채취와 세균의 분리

고온 호기성 세균의 급원인 토양은 충남 아산시 배방면 세출리 인근의 10년 이상 된 경작지와 야산, 쓰레기 매립장에서 채취하였고 또한 시판 음식물 찌꺼기 미생물 발효제인 YM(영진환경)도 미생물 급원으로 사용하였다. 각각의 토양 및 발효제 1g과 멸균수 9ml을 가하고, 교반하여 10분간 정치하였다. 이 균질액의 상등액 5ml를 cap tube에 취한 후, 75℃의 진탕 항온수조에서 5분간 열충격을 주어 germination 시킨 뒤 냉수로 급냉시켰다. 이 균질액을 단계적으로 희석한 후, LB medium(tryptone 10g, yeast extract 5g, NaCl 10g, agar 15g/D.W 1L)에 55℃에서 48시간 배양하여 생긴 각각의 colony를 한 개의 균주로 분리하였다

### 2-2 균주 Screening 및 적합화

토양 등의 시료에서 분리된 세균들을 55℃에 배양하여 특히 잘 생육하는 균들만을 선별한 후, 이들을 남은 음식물을 기질로 장기간 증식시켜 고온발효의 사료화에 적합하도록 세균들을 길들였다.

### 2-3. 발효조건

균주는 2일간 전 배양하여 음식물 찌꺼기의 발효에 종균제로 사용하였으며, 호기적 발효를 위하여 jar fermenter(한국발효기, 2 liter 용량)를 이용하여 충분히 통기시키면서 24시간 동안 발효시켰다. 액체배지로서 호서대학교 학생식당에서 일주일간 수거한 음식물 찌꺼기를 모아 분쇄한 뒤 냉동시켜 보관하여 이용하였다. 고형분 15%를 함유한 음식물 찌꺼기를 다시 한번 homogenizer로 곱게 분쇄한 뒤 가압멸균시켜 액체 발효기질로 사용하였다.

### 2-4. 생균수 측정

발효 시간별로 1 ml의 시료를 취한 뒤 단계별로 희석한 후, 희석액 0.1 ml을 LBA medium에 도말하는 평판 도말 배양법을 이용하였다. 배양 48시간 후에 colony를 세어 희석 배수를 곱해주어 생균수를 계산하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3-1. 균주 Screening

재배지 토양으로는 아산시 배방면 호서대 인근의 배추, 파 등의 채소류를 재배하는 밭과 벼농사를 짓는 논외 토양을 채취하여 종균원으로 이용하였다. 이는 서 등의 연구에 의하여 호기성, 고온성인 Bacillus속 등의 토양 미생물들이 10년 이상 된 시설 재배지에서 생장 밀도가 높다는 결과를 기초로 실시한 것이다. 또한, 유기물질이 많이 함유된 시료로서 쓰레기

매립장의 토양도 채취하였다. 야산에 낙엽이나 기타 유기물질들이 쌓여서 퇴비화가 이루어지므로 여기서 정착한 고온성 미생물을 분리하기 위해 호서대 인근의 야산에서 비옥한 토양을 채취하였다. 한편, 현재 음식물 찌꺼기 발효용 종균제로 시판되고있는 영진환경 YM종균제에서도 고온균 들을 분리하였다.

영양세포들은 그대로 배양하였고, 한편 포자는 발아시키기 위하여 토양 시료 추출물들을 75℃에 5분간 열충격을 준 뒤 배양하였다. 분리된 세균들은 재배지 토양에서 분리해 낸 B계열, 폐기물 처리장에서 분리해 낸 F계열, 야산에서 분리해낸 W계열의 균주로 분류한 뒤 Screening을 실시하였다. 각각의 배지에 나타난 colony의 형태를 관찰하여 모양이 서로 다른 colony 별로 구분한 뒤 이들을 순수 분리하여 남은 음식물 배지에서 장기간 배양하며 배양환경에 잘 자라도록 적합화시켰다.

### 3-2 균주의 배양

음식물 배지에 잘 자라도록 익숙해진 세균들을 발효기에서 호기적으로 증식시켰다. 각각의 세균들은 LB medium에 전배양 한 뒤 남은 음식물에 5%(V/V) 첨가하여 고온발효(55℃, 24시간) 시켰다. Figure 1은 B group의 세균들의 음식물찌꺼기를 기질로 한 발효시 증식곡선을 나타낸 것이다. 전반적으로 B group의 세균들은 반응개시 4시간이 지나야 증식이 빨리 이루어지기 시작했으며, 24시간을 정점으로 감소하는 경향을 나타냈다.

B group의 9개 선발 균주 들 중에서 B6가 가장 높은 증식 속도를 나타냈다. B6는 발효 초기 단계인 4시간만에 이미  $1.3 \times 10^9$ /ml로 높은 생균수를 나타냈고, 8시간에는 최고치인  $7.5 \times 10^9$ /ml까지 균수가 증가했다. 이후, 다소 감소하는 경향을 보였으나, 다시 점차적으로 생균수가 증가하여 일정 값을 유지하는 경향을 나타냈다. 그밖에 B group의 세균들 중에서는 B3, B4가 비교적 높은 생균수를 나타내었는데, B3는 반응초기에는 다른 B group의 세균과 같이 느린 증식속도를 나타내었지만, 반응 16시간에  $3.9 \times 10^9$ /ml, 24시간에는  $5.0 \times 10^9$ /ml로 증가하는 경향을 나타내었다. B4는 반응초기에는 느린 증식속도를 나타내었지만, 16시간이 지나면서,  $2.9 \times 10^9$ /ml, 24시간에는  $5.8 \times 10^9$ /ml증가하는 경향을 나타내었다.

Figure2는 W group 세균들의 생균수의 변화를 보여준다. W group의 세균들은 발효개시 4시간 경과후 이미 급속한 생균수의 증가가 나타나기 시작했다. W1은 8시간에  $4.6 \times 10^9$ /ml, W3는  $4.4 \times 10^9$ /ml를 나타냈고, 16시간에는 각각  $6.8 \times 10^9$ /ml,  $6.2 \times 10^9$ /ml의 높은 생균수를 나타냈다. 그러나 W group의 모든 세균들도 B group과 같이 24시간이 경과함에 따라, 감소하는 경향을 나타내었다.

Figure 3은 F그룹 및 YM분리세균들의 발효시간동안의 생균수 변화를 보여주며, YM 종균제에서 분리한 세균이 가장 높은 생균수의 증가를 나타냈다. YM 세균은 발효개시 8시간 후에 이미  $6.1 \times 10^9$ /ml, 16시간에는  $8.7 \times 10^9$ /ml 의 높은 생균수를 나타냈다. F1은 반응 4시간이 지나면서 빠른 생균수의 증가를 나타냈는데, 8시간에 이미  $6.3 \times 10^9$ /ml로 YM세균과 대등한 수치를 나타냈다. 그러나 이후에는 완만한 지속적인 증가세를 나타냈다.

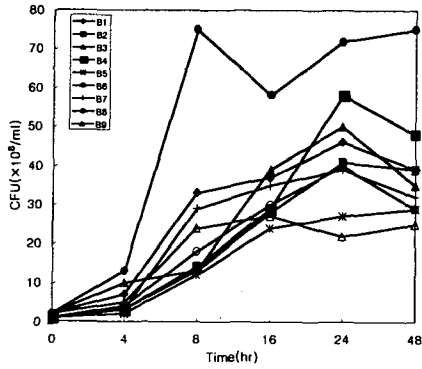


Figure1. Change of viable cell count during the fermentation of food waste by the bacterial strains isolated from agricultural land(B group)at 55°C

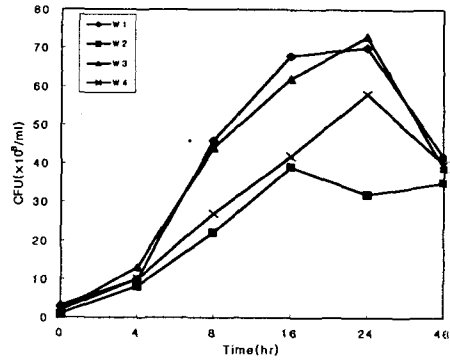


Figure2. Change of viable cell count during the fermentation of food waste by the bacterial strains isolated from mountain soil(W group)at 55°C

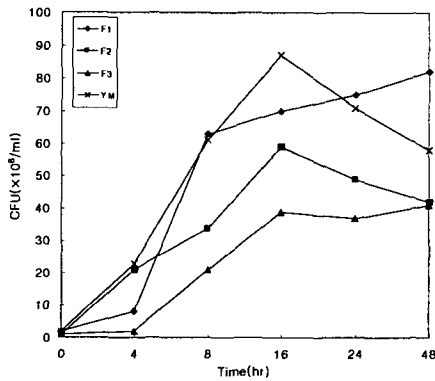


Figure3. Change of viable cell count during the fermentation of food waste by the bacterial strains isolated from reclamation area(F group) and commercial complex inoculum YM at 55°C

#### 4. 결론

음식물 찌꺼기를 기질로 생균발효 사료를 만들기 위해 적합한 종균을 55°C에서 발효 시험을 거쳐 screening을 한 결과, 경작지에서 분리한 B6, 야산에서 분리한 W1, 쓰레기 매립장에서 분리한 F1과 종균제에서 분리한 YM 세균이 8시간 내에  $1 \times 10^9$ /ml로 증식하여 고온 속성 발효에 적합한 종균으로 선택되었다.

#### 5. 참고문헌

1. 한성일. 남은음식물 자원화의 경제합리성, 남은 음식물사료화심포지엄. 89-106,1999.
2. 배재근. 주방폐기물의 고속 퇴비화 소멸용장치의 특성에 관한연구. 서울산업대 대학논문집, 477-491, 1994.
3. 박종부, 차두중, 신석봉. 음식 폐기물의 감량화와 composting을 위한 속성 발효용 균주의 개발, 한국유기성폐기물자원학회 추계학술대회, 45-48, 1995.
4. Lee, K,Y, LEE, S,T. Yeast biomass production from concentrated sugar cane stillage using athermotolerant *Candida rugosa*, *Journal of Microbiology and Biotechnolgy* 5(2), 114-116, 1995.
5. 양재경, 서용기, 최경민, 박용로, 황기, 이성택 보문 / 식품 및 환경, 기타 : 고온 · 호기법에 의한 중화요리잔반의 처리 과정에서의 중 · 고온균의 분리 및 특성 산업미생물 학회지, Vol. 25, pp. 623-629, 한국산업미생물학회, 1997.